

FACULTÉ DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE DE LYON

Année Scolaire 1938-1939 — N° 180

Essai de Cancérologie

**Influence des inhalations d'hydrogène sulfuré
sur le cancer expérimental
de la souris blanche et sur les "cathepsines"
de l'animal cancéreux (foie et tumeurs)**

Travail du Laboratoire de Médecine expérimentale
et du Laboratoire de Chimie organique et de toxicologie

THÈSE

PRÉSENTÉE

à la FACULTE de MÉDECINE et de PHARMACIE de LYON
et soutenue publiquement le 5 Juillet 1939

POUR OBTENIR LE GRADE DE DOCTEUR EN MÉDECINE

PAR

Jean CAUMON

Elève de l'Ecole du Service de Santé Militaire
Né le 22 Décembre 1912, à CHATEAUDUN (Eure-et-Loir)



LYON

BOSC Frères M. & L. RIOU

IMPRIMEURS-ÉDITEURS

42, Quai Gailleton, 42

—
1939

ESSAI DE CANCÉROLOGIE



Digitized by the Internet Archive
in 2026

FACULTÉ DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE DE LYON

Année Scolaire 1938 1939 — N° 180

Essai de Cancérologie

**Influence des inhalations d'hydrogène sulfuré
sur le cancer expérimental
de la souris blanche et sur les "cathepsines"
de l'animal cancéreux (foie et tumeurs)**

Travail du Laboratoire de Médecine expérimentale
et du Laboratoire de Chimie organique et de toxicologie

THÈSE

PRÉSENTÉE

à la FACULTE de MÉDECINE et de PHARMACIE de LYON

et soutenue publiquement le 5 Juillet 1939

POUR OBTENIR LE GRADE DE DOCTEUR EN MÉDECINE

PAR

Jean CAUMON

Elève de l'Ecole du Service de Santé Militaire

Né le 22 Décembre 1912, à CHATEAUDUN (Eure-et-Loir)



LYON

BOSC Frères M. & L. RIOU

IMPRIMEURS-ÉDITEURS

42, Quai Gailleton, 42

1939

PERSONNEL DE LA FACULTE

doyen honoraire	M. L. HUGOUNENQ
Doyen	M. J. LEPINE.
Assesseur	M. A. MOREL.

PROFESSEURS HONORAIRES

MM. LANNOIS, HUGOUNENQ, PIC, CONDAMIN,
PAVIOT, NICOLAS, VILLARD,, NOVE-JOSSERAND, TIXIER, COLLET, GAYET, CLUZET

PROFESSEURS

Cliniques médicales	{	MM. FROMENT
Cliniques chirurgicales		SAVY.
Clinique obstétricale et Accouchements	{	PATEL.
Clinique ophtalmologique		BERARD.
Cliniques dermatologique et syphiligraphique		VORON.
Clinique neurologique et psychiatrique ..		BONNET.
Clinique médicale infantile		FAVRE.
Clinique gynécologique.....		LEPINE (J.).
Clinique Oto-rhino-laryngologie		MOURIQUAND
Clinique urologique.....		COTTE.
Clinique chirurgicale infantile et orthopédie		REBATTU.
Clinique et prophylaxie de la tuberculose		CIBERT.
Clinique des maladies infectieuses		TAVERNIER.
Physique biologique, Radiologie et Physiothérapie		COURMONT
Chimie biologique et médicale		J. CHALIER
Chimie organique et Toxicologie		PONTHUS.
Matière médicale et Botanique		FLORENCE
Parasitologie et Histoire naturelle médicale		MOREL.
Anatomie		MANCEAU.
Histologie		GUIART.
Physiologie		LATARJET
Pathologie interne		POLICARD.
Pathologie générale et thérapeutique		HERMANN.
Anatomie pathologique		CORDIER.
Chirurgie opératoire		CADE.
Médecine expérimentale et comparée et Bactériologie		J-F. MARTIN.
Médecine légale		SANTY.
Hygiène		ARLOING (F.)
Pharmacie et Pharmacologie		Etienne MARTIN
Hydrologie thérapeutique et Climatologie		ROCHAIX.
		LEULIER.
		PIERY.

PROFESSEURS TITULAIRES SANS CHAIRE

Chargé d'un cours d'Anatomie médico-chirurgicale	MM. THEVENOT (Léon)
Chargé d'un cours d'Embryologie	NOEL.

AGREGES

MM.	MM.	MM.	MM.
GABRIELLE	GUILLEMINET	DE ROUGEMONT	MORIN
DECHAUME	MORENAS	P. RAVAUT	BERTRAND
BERNHEIM	REVOL	PIGEAUD	CLAVEL
POLLOSSON	ENSELME	CROIZAT	LEVRAT
CHAMBON	SEDALLIAN	DELORE	
EPARVIER	CREYSSSEL	JOSSERAND	



EXAMINATEURS DE LA THESE

MM. ARLOING, président : MOREL, assesseur ;
DUFOURT et JOSSERAND.

La Faculté de Médecine de Lyon déclare que les opinions émises dans les dissertations qui lui sont présentées doivent être considérées comme propres à leurs auteurs, et qu'elle n'entend leur donner ni approbation ni improbation.

A LA MEMOIRE DE MON PERE

Sa vie de droiture et de bonté est
le plus bel exemple que je puisse sui-
vre.

A MA GRAND'MERE

Je lui dois une jeunesse heureuse.

A MA MERE

En témoignage de ma reconnaissance et de mon profond amour. Je lui dois tout.

A MA SŒUR SYLVAINÉ

A MES FRÈRES ROLAND, ANDRÉ, MICHEL

A MES TANTES, A MES ONCLES

A TOUS LES MIENS

A MON COUSIN

LE DOCTEUR MARCEL NAUWELAERTS

Directeur du Sanatorium Etienne-Clémentel

A NOTRE MAÎTRE ET PRÉSIDENT DE THÈSE

MONSIEUR LE PROFESSEUR ARLOING

Professeur à la Faculté de Médecine de Lyon
Chevalier de la Légion d'Honneur

Il nous a fait le très grand honneur
d'accepter la présidence de notre
jury de thèse. Qu'il trouve ici l'ex-
pression de notre respectueuse re-
connaissance.

A MONSIEUR LE PROFESSEUR MOREL

Professeur de Chimie organique et de Toxicologie
Membre correspondant de l'Académie de Médecine
Officier de la Légion d'Honneur

Il nous a inspiré le sujet de cette
thèse, ses bienveillants conseils et
son entier dévouement nous furent
toujours acquis.

Nous le remercions très sincère-
ment.

A MONSIEUR LE PROFESSEUR AGRÉGÉ DUFOURT

Médecin des Hôpitaux
Chevalier de la Légion d'Honneur

Hommage respectueux.

A MONSIEUR LE PROFESSEUR AGRÉGÉ JOSSERAND

Professeur à la Faculté de Médecine de Lyon
Médecin des Hôpitaux

Maître bienveillant, plein d'indul-
gence, il n'a cessé de nous aider de
ses conseils.

Qu'il soit assuré de notre très
grande admiration et de nos remer-
ciements respectueux.

A MONSIEUR BADINAND

Pharmacien chef de l'Antiquaille

Nous lui devons une partie de nos résultats expérimentaux. Sa cordialité et son tonus lui ont acquis toute notre sympathie. Nous le prions de croire à notre très sincère reconnaissance.

AUX DOCTEURS PIERRE CHENET,

JACQUES POUCHET, ROLAND CHOUMARA

AU DOCTEUR ERNST FELLNER

A MONSIEUR LE MÉDECIN GÉNÉRAL CRISTAU
Directeur de l'Ecole du Service de Santé Militaire

A LA MÉMOIRE DE MON MAÎTRE DE L'ÉCOLE ANNEXE
DE MÉDECINE NAVALE DE BREST
MONSIEUR LE PROFESSEUR AGRÉGÉ ROLLAND

A MES MAÎTRES
DE L'ÉCOLE DU SERVICE DE SANTÉ MILITAIRE
ET DE L'HÔPITAL MILITAIRE DESGENETTES

ESSAI DE CANCÉROLOGIE

J'ai plus de propension à admettre, tout au moins provisoirement et jusqu'à ce que des recherches nouvelles aient montré le néant de mon hypothèse, que le processus cancéreux a pour origine un ferment dissociateur des proléiques de l'organe où vont naître les cellules cancéreuses.

...Le processus cancéreux est une véritable maladie des ferments.

Albert ROBIN.

INTRODUCTION

M. le Professeur Morel, au cours d'une vie scientifique de près d'un demi-siècle passée dans les laboratoires d'enseignement de la chimie, remarqua plusieurs fois, sur le personnel enseignant de ces laboratoires (maîtres et garçons), la fréquence d'une affection ulcéreuse ou néoplasique très particulière, caractérisée par une extériorisation modique de la tumeur, mais à marche évolutive rapide, aboutissant toujours à la mort du sujet : le diagnostic d'ulcération ou de néoplasme ayant souvent été porté tardivement, étant donné le caractère atypique de ces tumeurs malignes, généralement à localisation digestive.

Il en vint alors à soupçonner le rôle possible d'une

intoxication chronique due aux différents gaz existant à des doses souvent considérables dans l'atmosphère des laboratoires, surtout dans ceux où l'analyse chimique minérale est pratiquée simultanément par de nombreux élèves. L'hydrogène sulfuré et le sulfhydrate d'ammoniaque furent tenus pour les plus importants et les responsables probables de ce processus évolutif ulcéreux ou néoplasique d'un type très particulier.

Nous avons donc essayé de reproduire expérimentalement cette intoxication chronique et nous nous sommes proposé d'étudier le rôle de l'hydrogène sulfuré, par inhalation, sur l'évolution de l'épithélioma de la mamelle, greffé expérimentalement à la souris blanche.

Dans un premier chapitre nous rappellerons brièvement les notions classiques concernant l'hydrogène sulfuré, ses différentes actions physiopathologiques et ses effets toxiques possibles dans la vie et l'industrie modernes.

La seconde partie sera consacrée aux résultats expérimentaux obtenus au laboratoire de médecine expérimentale de Lyon, sous le contrôle bienveillant de M. le Professeur Arloing et de M. le Professeur agrégé Josserand. D'autre part, grâce à la précieuse collaboration de M. Badinand, pharmacien chef de l'Antiquaille, qui poursuit depuis plus de deux ans des recherches sur les agents activateurs et inhibiteurs des enzymes protéolytiques, dans le laboratoire de chimie organique et de toxicologie de la Faculté de Lyon ; nous traiterons d'une enzyme protéolytique

animale « la cathepsine », trouvée normalement dans l'organisme sain, mais obtenu également dans le matériel tumoral et qui est activée électivement par l'hydrogène sulfuré.

Avant d'entreprendre ce modeste travail, couronnement de nos études, nous tenons à exprimer toute notre reconnaissance à notre maître, M. le Professeur Morel, qui nous l'a inspiré. Nous avons toujours trouvé auprès de lui l'accueil le plus bienveillant. Il ne nous a ménagé ni son temps ni sa peine et nous a toujours encouragé et guidé de ses conseils éclairés.

Au moment où notre vie d'étudiant s'achève et où commence pour nous une nouvelle étape, qu'il nous soit permis de remercier ici tout particulièrement M. le Professeur Arloing et M. le Professeur Agrégé Jossierand qui ont bien voulu travailler avec nous et nous permettre ainsi de mener à bien nos recherches.

CHAPITRE PREMIER

L'HYDROGENE SULFURE

HISTORIQUE

Etudié pour la première fois en 1773 par Rouelle le Jeune, le gaz acide sulfhydrique fut d'abord appelé « air puant » à cause de son odeur fétide spécifique. Mais c'est Scheele qui ayant pu l'obtenir avec une pureté suffisante et après avoir reconnu son inflammabilité, le nomma hydrogène sulfuré en 1777.

Un peu plus tard, Berthollet (1798) détermina sa composition exacte et étudia surtout ses propriétés chimiques.

Très bien étudiées et devenues classiques actuellement, les propriétés physiques et chimiques de l'hydrogène sulfuré ne seront pas rappelées dans cet essai. Nous nous bornerons à l'étude de ses propriétés physio-pathologiques et de son rôle activateur ou inhibiteur dans certains processus biologiques.

PROPRIETES PHYSIO-PATHOLOGIQUES

L' SH_2 est un composé extrêmement vénéneux dont l'action se fait sentir sur l'organisme sain, même

lorsqu'il est étendu de beaucoup d'air. C'est surtout lorsqu'il est introduit par les voies respiratoires que l'hydrogène sulfuré est puissamment toxique. Par contre ingéré dans l'estomac à l'état de solution aqueuse, il est supporté à des doses relativement élevées ; on en trouve la preuve évidente, par exemple dans l'usage que l'on fait couramment des eaux minérales sulfureuses. On prétend même que Monge avait l'habitude de boire par plaisir de l'eau contenant en dissolution de l' SH_2 .

Expérimentation : Pour connaître assez exactement les effets toxiques de SH_2 il a fallu recourir à l'expérimentation et utiliser divers réactifs animaux. Dupuytren et Thénard avaient constaté autrefois que 1/1.500 de ce gaz dans l'air suffisait pour tuer immédiatement un oiseau, 1/800 un chien, 1/200 un cheval. Le lapin et la souris y sont encore beaucoup plus sensibles que le chat et le chien. D'après nos expériences personnelles nous avons constaté que vingt souris pouvaient vivre plus de deux mois dans une atmosphère quotidiennement renouvelée de 2,13 dixièmes de mgr. de SH_2 par litre. Si les chiens ne supportent pas une atmosphère au 1/800, ils peuvent vivre par contre plusieurs jours dans une atmosphère au 1/1.000. Brouardel et Loye ont trouvé que : SH_2 est toujours mortel à la dose de 0,12 % ; trois chiens sont morts en trois minutes dans une atmosphère contenant 2 % et après 40 minutes dans un milieu à 0,5 %. Mais cette échelle est loin d'être rigoureuse et paraît assez sujette à modification ; Duchatelet a reconnu que l'hom-

me pouvait vivre pendant plusieurs heures et supporter sans danger une concentration pouvant atteindre 0,15 p. 1000, c'est-à-dire 0 mgr. 2 par litre. Nous étudierons à part les symptômes que produit cette intoxication sur l'homme et l'altération profonde du sang qui devient noir chez les hommes ou les animaux empoisonnés (fait attribué à sa teneur en fer). L' SH_2 est absorbé non seulement par les voies respiratoires mais encore par la peau et les muqueuses. On le démontre aisément en plongeant dans SH_2 un animal dont la tête reste à l'air libre (la mort survient entre 20' et 1 heure suivant que l'animal a été rasé ou non).

Si l'absorption de SH_2 par l'organisme est rapide, son élimination l'est presque autant. Claude Bernard a en effet montré que si l'on injecte une solution aqueuse de ce gaz dans le rectum ou mieux dans la jugulaire d'un chien, un papier à l'acétate de plomb, placé dans la gueule de l'animal noircit en 65 secondes, par le gaz éliminé pendant l'expiration. Des injections de solutions sulfureuses ont également permis de constater des faits semblables dans les phénomènes respiratoires du lapin (Clerget, Kofman et Milhaud). J. Pohl étudia, sur le lapin également, les différents stades de la tension artérielle après injection intraveineuse de 0,01 SNa^2 . Selon lui, le premier sort que subit l' SH_2 , après son introduction dans l'organisme est la transposition des alcalis du sang en alcalis sulfurés ; ceux-ci, lancés dans la circulation provoquent immédiatement tous les symptômes circulatoires et respiratoires, spécifiques de l'intoxication par SH_2 .

Son expérience, pratiquée sur un lapin de 1 kg. 600 peut être schématisée dans le tableau ci-dessous. Elle montre l'effet hypotenseur rapide de SH_2 lorsqu'il est introduit directement dans le torrent circulatoire.

Temps		TENSION cardiaca en m/m de HG
6 h. 54' 10"	13 mouvements respiratoires en 10".	103-110
6 h. 54' 25"	Injection de 0,01 SNa_2 (intraveineuse).	
6 h. 54' 32"	Convulsions, dyspnée, contractions fibrillaires.	120
6 h. 54' 57"		84
6 h. 56' 10"		48
6 h. 59' 30"		20
7 h. 10"	Mort de l'animal; le cœur mis à nu bat encore très légèrement.	

Chez les êtres unicellulaires, l'action toxique de SH_2 est encore plus rapide. Nous citerons simplement les belles expériences de Hermann Beerman (Woods Hole, Massachusetts) effectuées sur six variétés de protozoaires. Chaque variété réagit d'une manière spécifique à SH_2 , mais la mort survient toujours très rapidement même si les dissolutions de SH_2 sont très faibles.

Cet auteur étudia également l'influence de SH_2 sur les processus intimes du développement des œufs fécondés d'étoile de mer. Si de tels œufs sont traités avec une solution aqueuse de SH_2 , un effet inhibiteur se produit. Cette inhibition cessera lorsque les œufs seront lavés abondamment avec de l'eau de mer

fraîche, jusqu'à ce que toute trace d' SH_2 soit éliminée du milieu où les œufs doivent se développer.

Action de SH_2 sur les enzymes: D'après C. Neuberger l' SH_2 ralentit l'action de la zymase du levain, toutefois même un excès d' SH_2 ne peut inhiber complètement l'action de cette zymase. La présence d' SH_2 suffit pour quintupler la durée de la fermentation et pour E. Negelein une concentration de 6.10^{-3} n. SH_2 arrêterait complètement cette fermentation. A Lyon, P. Chaix étudia particulièrement l'action de quelques dérivés sulfurés sur la fermentation du glucose par les bactéries propioniques. Elle montra qu'une culture de bactéries propioniques correspondant à une masse bactérienne inférieure à la quantité active limite est inapte à produire la fermentation du glucose. Par contre l'adjonction d'une faible quantité de dérivés sulfurés comme la cystine, la cystéine, le glutathion réduit, réactive le processus fermentaire. Les causes d'erreurs expérimentales (comme la multiplication bactérienne au cours de l'expérience) semblent écartées.

Nous verrons dans le chapitre suivant, le rôle d'activateur puissant que remplit l' SH_2 vis à vis des papaïnases et des « cathepsines » en particulier. Nos expériences personnelles prouveront assez clairement:

1° Qu'il existe une augmentation des cathepsines du foie et des tumeurs sous l'influence de SH_2 , en inhalation.

2° Le rôle inhibiteur de SH_2 dans l'évolution d'un épithélioma de la mamelle greffé expérimentalement à la souris blanche.



SYMPTOMATOLOGIE DU SULFHYDRISME PROFESSIONNEL

Les symptômes de cette intoxication professionnelle ou accidentelle se présentent sous deux formes très différentes : une forme aiguë, la plus fréquente et la mieux étudiée, une forme lente, souvent ignorée et non spécifique de l'intoxication sulfhydrylée.

FORME AIGUE

L'individu ayant inhalé des doses assez fortes d' SH_2 (de 0,6 mmgr. à 0,8 mmgr. d' SH_2 par litre) passe « d'abord par une période d'excitation extrême, bientôt suivie d'un profond abattement et d'un engourdissement des principales fonctions » (Fabre). Les muscles sont paralysés et les pupilles très dilatées, puis survient la période des convulsions et des contractions. Le coma mortel survient bientôt si l'individu n'a pas été soustrait immédiatement de la zone méphitique. Si les doses inhalées sont très fortes (de 1 mmgr. 2 à 2 mmgr. 8 d' SH_2 par litre), la mort est, presque instantanée, par inhibition du centre respiratoire bulbaire. Le travailleur, après deux ou trois

inspirations, tombe comme une masse de plomb, d'où le nom « de plomb des vidangeurs » donné à ces accidents. Ramené à l'air libre, il est possible de le rappeler à la vie grâce à la respiration artificielle, associée aux tractions rythmées de la langue, mais très souvent ces guérisons ne sont qu'apparentes. P. Brouardel a montré, par deux cas personnellement observés, que la mort peut encore survenir plusieurs heures après que le malade a été rappelé à la vie. Les nécropsies faites dans ces quelques cas ont appris peu de chose: on a surtout noté une putréfaction extrêmement rapide (au bout de 48 heures elle était plus avancée qu'elle ne l'est en été au bout de plusieurs jours). Quand la mort a été rapide, on ne retrouve jamais le spectre du sang que Pouchet considérait comme spécifique de l'intoxication par SH_2 . Ces cas d'intoxications mortelles sont de plus en plus rares, actuellement par contre les médecins experts décrivent une intoxication subaiguë dès que la concentration en SH_2 atteint 0,4 mmgr. par litre. L'ouvrier vivant dans une telle atmosphère ressent au niveau de l'œil, du nez et des voies respiratoires supérieures une vive douleur, presque une brûlure (et cela en moins de vingt minutes). A doses relativement faibles le symptôme spécifique de l'intoxication par SH_2 est donc le catarrhe oculo-nasal, très souvent observé dans les usines où l'on travaille la soie artificielle.

FORME LENTE OU CHRONIQUE

Cette forme se traduit par des symptômes non spécifiques : inappétence, malaises, céphalées tenaces, vomissements, amaigrissement, cachexie même si l'étiologie de cette intoxication chronique est passée longtemps inaperçue. On observe cette forme à la suite de la pénétration dans les appartements des gaz de fosses d'aisances non étanches. A ce sujet, Brouardel rappelle qu'il y a quelques années toute la rue d'Ulm fut infectée par les gaz méphitiques qui se dégageaient des égouts mal entretenus « la quantité d'hydrogène sulfuré qui s'échappait et remontait dans les maisons était telle que partout l'argenterie devint noire ». Lors des travaux de terrassement de l'Hôtel des Postes de Paris on trouva un immense lac fécal qui devait dater de Philippe Auguste et qui durant de nombreuses années infecta insidieusement tout le voisinage. En Angleterre, Christian a observé une intoxication collective de 22 enfants d'une école dont 2 moururent; les autres présentèrent des symptômes cholériformes pendant 2 à 3 jours. Les gaz (très riches en SH_2) provenaient d'un champ d'épandage voisin de l'école. Grancher, observa dans une école d'Asnières les mêmes accidents cholériformes, qui étaient dus uniquement à l'hygiène déplorable de cette école.

Voici d'après Lehmann et Hess le barème de toxicité de SH_2 pour l'homme.

Toxicité de SH₂ pour l'homme
(d'après Lehmann-Hess)

	concentration de SH ₂	
	en mg. par litre	en cm ³ par m ³
Immédiatement mortel	1,2 -2,8	850-2.000
Mortel en 1/2 h.-1 h.	0,6 -0,84	420-600
Dangereux en 1/2 h.-1 h.	0,5 -0,6	360-420
Supportable 1/2 h.-1 h. sans conséquence grave	0,24-0,36	170-260
Supportable 6 h. sans conséquence grave (odeur encore notable)	0,12-0,18	85-130

EN RÉSUMÉ : L'intoxication par SH₂ est assez voisine de celle produite par l'acide cyanhydrique (R. Fabre) ce qui expliquerait peut-être en partie, la communauté de leurs actions biologiques sur les ferments de l'organisme et sur les « cathepsines en particulier », actions que nous développerons ultérieurement.

CHAPITRE II

INTRODUCTION

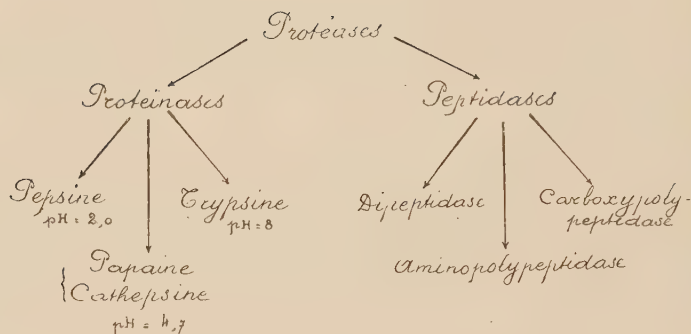
Parmi les multiples enzymes du domaine végétal et animal (et aux actions si variées) nous nous sommes proposé d'étudier une enzyme protéolytique intra-cellulaire d'origine animale, « la cathepsine », du groupe des protéases.

On sait que l'action des protéases consiste dans une rupture par hydrolyse du groupe (CO-NH) des matières protéiques et de leurs dérivés et qu'elles comprennent deux groupes principaux :

1° les peptidases qui dédoublent les polypeptides en acides aminés et

2° les protéinases qui attaquent bien les substances protéiques, mais non les polypeptides.

Chaque groupe renferme divers types que nous représenterons selon le schéma ci-dessous emprunté à Wolfgang Grassmann.



(Schéma de Grassmann et F. Schneider)

On classe donc parmi les protéinases, les papaïnases (Willstätter) qui comprennent divers types de ferments, parmi lesquels : des ferments digestifs cellulaires comme la papaïne, les protéases des graines, la protéase de la levure et surtout la « cathepsine » trouvée dans la muqueuse gastrique par Willstätter et Bamann en 1929 et retrouvée depuis dans la plupart des organes et des tissus animaux. Ce sont ces papaïnases que nous nous proposons d'étudier plus à fond, et parmi elles « la cathepsine » qui est au règne animal ce que la papaïne est au règne végétal.

L'étude de la papaïne reste d'ailleurs intimement liée à celle de la cathepsine ; de préparation et surtout de purification plus aisée, elle permet à Willstätter d'étudier les phénomènes d'activation et d'inactivation réversibles, qui sont avec la dépendance du PH les caractéristiques essentielles de ces enzymes.

HISTORIQUE DES PAPAINASES

Ce sont deux anglais, Griffith Hughes et Patrick Brown (1750) qui les premiers attirèrent l'attention des savants européens sur « la merveilleuse action digestive des albumines » par le suc laiteux du *Carica Papaya*. Les premières recherches chimiques concernant la papaïne furent entreprises par A. Wurtz et E. Bouchut, qui orientèrent leurs essais d'après l'emploi, par les physiologistes français, de l'acide cyanhydrique comme antiseptique. De 1902 à 1910 Vines fit de très intéressantes observations sur les enzymes protéolytiques de la flore végétale. Depuis, un grand nombre d'essais sur la papaïne ont paru, parmi lesquels ceux de L. B. Mendel, De A. F. Blood et de E. M. Frankel qui reconnurent à l'acide cyanhydrique, en plus de son pouvoir microbicide, un rôle d'activateur puissant sur toutes les papaïnases. Actuellement on admet avec E. Waldschmidt-Leitz, que l'action de l'H₂CN sur la papaïne ressemble étrangement au comportement de l'entérokinase vis à vis de la trypsine. Nous négligerons cette enzyme végétale, pour nous occuper des enzymes catheptiques animales, d'un intérêt plus immédiat, car trouvées dans les cellules d'organes nobles comme le foie, la rate, le rein, mais aussi dans le tissu tumoral spontané (ou obtenu expérimentalement par greffe) et qui, à part l'anarchie des mitoses, présente un état bien moins différencié, presque embryonnaire.

LES CATHEPSINES

On peut parler « des cathepsines » car ces enzymes protéolytiques se trouvent sous deux formes, liées toutes les deux intimement au protoplasma cellulaire; cependant, une partie de l'enzyme est extraite facilement à 0° par simple dissolution dans un milieu aqueux glyciné, c'est la forme « lyo-cathepsine » (de Willstätter). Il existe par contre une « desmo-cathepsine », plus étroitement liée aux constituants cellulaires et qui demande pour son extraction de longues et minutieuses préparations.

Caractéristiques

Ces enzymes catheptiques se trouvent en quantité notable dans les cellules parenchymateuses des organes différenciés comme le foie, la rate, l'estomac, le rein; par contre, à l'état normal, on en trouve très peu dans le tissu musculaire. Le tissu néoplasique contient également des quantités appréciables de cathepsine et nous étudierons à part les variations quantitatives que subit cette enzyme au cours de l'évolution d'un épithélioma expérimental (Maschmann et Erica Helmert). Mais ce qui caractérise surtout cette enzyme c'est que pour remplir une action protéolytique il lui faut un complément indispensable, un activateur naturel (ou artificiel si l'on étudie son comportement in vitro). De plus les cathepsines ont pour caractère

majeur d'agir à un PH de 4 à 7. Voici exposées dans un tableau emprunté à W. Grassmann les particularités essentielles des différentes protéases.

PH. OPT	Protéinases	Peptidases	Comportement vis à vis des activateurs et des corps inhibiteurs	Origine
1,5-2	Pepsine	—	—	Sécrétée par la muqueuse gastrique. Peut-être dans certaines plantes insectivores.
4-7	Papaïne Cathepsine	Carboxypolypeptidase	HCN-SH ² : glutathion actif. Entérokinase sans effet.	Cellules et tissus des animaux et des plantes.
8-9	Protéinase du pancréas Trypsine	Carboxypolypeptidase	Entérokinase active. HCN : glutathion et SH ² sans effet ou inhibent.	Leucocytes. Pancréas. Tube digestif des animaux supérieurs.
7-8,5	—	Amino-polypeptidase Dipeptidase	Entérokinase sans effet. HCN et SH ² : inhibent.	Cellules et tissus de tous les animaux et plantes. Leucocytes. Pancréas. Muqueuse intestinale.

(Ergb. der Enzymforschung Band I, p. 145).

ACTIVATION ET INACTIVATION DES ENZYMES CATHEPTIQUES ET DE LA PAPAINE

La propriété la plus remarquable de toutes les papaïnases réside dans la possibilité d'être activées

par l'addition de certaines substances, comme l'HCN, l'SH², la cystéine, le glutathion et d'une façon générale les groupements thiols. Vines remarqua le premier vers 1902 que lorsqu'on ajoutait de l'HCN à une expérience de désintégration d'albumine, le processus d'attaque par la papaïne était beaucoup plus rapide et important.

Ces dernières années Willstätter et ses collaborateurs étudièrent de plus près ces phénomènes d'activation par HCN et SH² et trouvèrent que cette particularité était l'apanage des protéinases des plantes inférieures et supérieures ; par exemple de l'ananas, de la levure, des cucurbitacées, du malt et de beaucoup d'autres. Enfin l'enzyme catheptique fut rattachée par Waldschmidt-Leitz aux protéinases du règne végétal, puisqu'elle réagissait dans le même sens aux mêmes activateurs. Si tous les auteurs sont unanimes à reconnaître l'action accélératrice de SH² ou de HCN, ils ne sont plus du tout d'accord lorsqu'il s'agit d'interpréter et d'expliquer cette propriété spécifique des papaïnases. Pour Wolfgang Grassmann tous ces phénomènes d'activation et d'inhibition pourraient se ramener aux deux hypothèses suivantes : selon cet auteur il y aurait : soit 1) suppression de corps inhibiteurs, soit 2) activation et inhibition réversibles ou irréversibles du système enzymatique proprement dit.

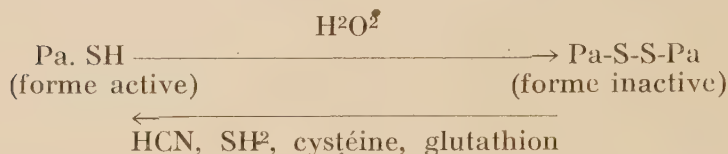
La première hypothèse fut soutenue par H. A. Krebs qui prétendait que l'activation de la papaïne et de la cathepsine était due à une suppression de traces de métal lourd, inhibitrices, dans l'enzyme ou dans le substrat. Mais cette hypothèse fut contredite par

K. G. Stern et L. Michaelis qui démontrèrent que les complexes de métaux lourds peuvent agir soit comme activateurs soit comme inhibiteurs.

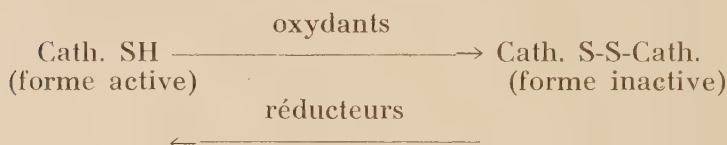
En fait, on peut admettre avec Grassmann qu'une partie de l'action des activateurs est faite, d'une part de la suppression de traces de métaux lourds (surtout pour le substrat) et d'autre part de la suppression de corps inhibiteurs (vraisemblablement organiques) qui sont liés à l'enzyme plus ou moins intimement.

Quant à la deuxième hypothèse, elle fait intervenir des phénomènes d'oxydo-réduction pour expliquer le passage d'un état enzymatique inactif à un état pleinement actif. En effet, Grassmann montra que, en plus des activateurs initiaux comme HCN et SH^2 , il existait d'autres activateurs qui n'agissaient que sous leur forme réduite (c'est le cas du glutathion et de la cystéine). Par contre sous leur forme de disulfide, obtenue par oxydation, ces activateurs étaient inefficaces. On en vint alors à admettre que la cathepsine active possédait la structure du thiol et que sa forme inactive était celle du disulfide. Théodor Bersin et Mothes purent même inactiver l'enzyme catheptique par H_2O_2 et la réactiver par des procédés de réduction ; ce qui fut d'ailleurs confirmé par A. Purr (disparition et réapparition de la réaction SH : coloration rouge au nitroprussiate). Comme moyen de réduction A. Purr utilisait l'HCN, l' SH^2 , le glutathion et la cystéine. Tous les auteurs sont actuellement d'accord pour représenter les formes actives et inactives des papaïnases, par Pa. SH (active) et Pa. S-S Pa (inactive). D'ailleurs le tableau ci-dessous emprunté

à W. Grassmann (et simplifié), schématise explicitement l'action des activateurs et des inhibiteurs.



Par extension et dans le même ordre d'idées, on peut représenter les deux formes active et inactive des cathepsines de la même façon c'est-à-dire



On peut expliquer l'action activante de SH_2 ou du glutathion comme une réduction de la forme -S-S- de l'enzyme inactive en une forme SH. active.

Activateurs naturels

L'intérêt de toutes ces études fut encore accru par les découvertes de Ambros et A. Harteneck qui mirent en évidence un corps naturel, auxiliaire indispensable de la protéolyse (la Phytokinase) et qui agit à peu près comme l'HCN et l' SH_2 . Une telle Kinase existe d'après ces mêmes auteurs dans l'ananas, le fruit du carica-papaya et aussi d'après Grassmann et Dyckerhoff dans la levure. Son correspondant dans le règne animal fut découvert par Waldschmidt-Leitz dans les organes d'animaux sains et bien isolé de la protéinase.

Quant à la nature de ces activateurs naturels et malgré la présence dans le règne végétal d'HCN à l'état isolé ou composé ; il semble difficile d'établir une relation exacte entre eux et ce corps.

D'ailleurs, à l'heure actuelle, tous les auteurs sont d'accord pour identifier avec le glutathion, aussi bien la Zookinase des animaux (Waldschmidt-Leitz) que la Phytokinase de la levure (Grassmann).

Autres activateurs

Connaissant l'action réductrice de l'acide ascorbique von Euler, Karrer et Zehender, eurent l'idée de se servir de cet acide comme activateur. Ils trouvèrent ainsi que l'acide ascorbique active la cathépsine hépatique au même titre que l'HCN et que les corps sulfurés précédemment étudiés. Ce rôle activateur de l'acide ascorbique fut aussi étudié vis à vis d'autres protéases par Maschmann, C. Helmert d'une part et A. Purr d'autre part. Ils trouvèrent même que cette action activatrice était renforcée par l'addition d'ions Fe^{2+} , Fe^{3+} et calcium, mais qu'elle était totalement inhibée par les ions Cuivre².

Des recherches, poursuivies pendant plus de deux années (au laboratoire de chimie organique et de toxicologie de la faculté de médecine de Lyon) par A. Badinand, prouvèrent que d'autres ions métalliques agissent dans le même sens. Il utilisa soit l'acide ascorbique, soit l'acide déshydrascorbique (préparé et étudié par MM. Morel, Arloing et Josserand) auquel

il ajouta différents ions métalliques à l'état ionisable.

Ses conclusions furent que :

« L'action activante de l'acide ascorbique sur la cathepsine hépatique est amplifiée par le fer, le zinc, le manganèse, le calcium, sous forme ionisable. Le baryum, le magnésium, le plomb, le titane sous cette forme ne l'amplifient pas.

« Les éléments métalliques à l'état de complexes ascorbiques ou déhydrascorbiques : fer, zinc, plomb, titane, manganèse ou associés dans ces complexes : calcium, baryum, magnésium, exercent une amplification analogue ou légèrement plus grande. Le cuivre, à l'état de générateur de complexes déhydrascorbiques, n'empêche pas l'activation tandis que sous forme ionisable il l'inhibe totalement.

« Le rôle biologique du zinc et sa synergie avec les vitamines, démontrés *in vivo* par G. Bertrand, peut être en partie expliqué par la constatation *in vitro* de son pouvoir activant ».

Connaissant désormais le rôle indispensable du glutathion dans l'activité protéolytique de la cathepsine, il nous parut logique d'essayer *in vivo* un activateur à effet voisin de celui du glutathion et dont l'action s'ajouterait à celle des activateurs normaux de l'organisme. L'SH² fut tenu pour l'activateur le plus facilement utilisable, le moins traumatisant et le plus efficace : sa pénétration dans l'organisme se faisant à travers l'arbre respiratoire qui assure ainsi, par toutes ses ramifications, une pénétration intime de SH² dans le sang et les tissus.

Dans le chapitre suivant nous étudierons : 1° le rôle du cancer greffé dans le métabolisme des cathepsines et 2° l'action *in vivo* d'un activateur spécifique (I'SH²) sur l'évolution du cancer greffé expérimentalement à la souris blanche, ainsi que sur les variations de la teneur en cathepsine du foie et du tissu tumoral.

I. — DE LA TENEUR EN CATHEPSINE DES ORGANES DE LA MUSCULATURE ET DES TUMEURS D'ANIMAUX NORMAUX, CANCEREUX ET CAN- CERO-RESISTANTS

E. Maschmann et Erica Helmert ont particulièrement étudié la teneur en cathepsine d'organes normaux et comparativement la teneur des mêmes organes chez des animaux rendus expérimentalement cancéreux.

Ils trouvèrent que le foie et la rate de souris carcinomateuses et le foie de poules carcinomateuses contenaient beaucoup plus de cathepsine que les organes correspondants chez les animaux sains.

Le degré d'activation de la protéinase catheptique dans les extraits d'organes d'animaux cancéreux est également en général plus élevé que celui de l'enzyme dans les extraits correspondants d'animaux normaux. L'intérêt de ces multiples expériences réside dans le fait que l'augmentation quantitative de la cathepsine dans le foie et la rate ne se produit pas immédiatement, mais au contraire progressivement au cours de la croissance de la tumeur, pour rétrocéder légèrement au moment de la mort des animaux cancéreux.

D'ailleurs ces résultats expérimentaux furent confirmés par A. Purr qui utilisa, au lieu de foies de souris, des foies de rats blancs.

Comme Maschmann et Waldschmidt-Leitz il remarqua cette même augmentation de cathepsine dans le foie des rats greffés, mais en plus il trouva que cette cathepsine apparaissait dans le muscle environnant la tumeur. Il n'y avait pas parallélisme entre l'apparition de la cathepsine dans le muscle et la diminution de la teneur en cathepsine des tissus cancéreux. Tout se passait donc comme s'il existait une perturbation profonde dans le métabolisme des enzymes. Chez les rats cancéro-résistants l'augmentation catheptique serait particulièrement importante, de même que dans le tissu musculaire environnant. Contrairement à l'opinion de A. Purr et de Waldschmidt-Leitz, Maschmann et Erica Helmert ne trouvèrent jamais de cathepsine en quantité mesurable dans la musculature des rats, des lapins, et des poules examinées, que ces animaux soient normaux, cancéro-résistants, ou porteurs de tumeur néoplasique. Par contre ils trouvèrent d'une façon constante que les cellules du foie, du rein, et de la rate contiennent beaucoup plus de cathepsine que les cellules du carcinome de la souris, du sarcome de la poule et de la souris.

L'opinion ancienne de Blumenthal et de Neuberg (basée sur des expériences périmées), que les tumeurs malignes sont particulièrement riches en enzyme protéolytique ne joue donc plus en ce qui concerne la protéinase catheptique.

Un résultat inattendu (dû aux patientes recherches de Maschmann) fut obtenu dans l'étude des tumeurs nécrotiques.

La protéinase catheptique manquait presque complètement dans ces extraits nécrotiques du carcinome de la souris (Ehrlich), tandis que le contenu en dipeptidase de ce matériel a regressé des 2/3 comparative-ment à celui du tissu tumoral solide.

Nous pourrions comparer, dans le tableau suivant (simplifié : d'après Maschmann) la teneur respective, en cathepsine, de différents organes animaux et du matériel tumoral frais et nécrotique.

Extrait de : . . .	Augmentation de l'acidité en cc KOH. 0.05 N	
	pas activé	activé avec cystéine
Foies de cobayes	0,64	0,80
	0,91	1,13
	0,59	0,72
Foies de souris normales	1,40	1,90
	1,17	1,76
Foies de souris carcinomateuses..	1,56	1,97
	1,76	2,35
	1,69	2,61
Foies de souris sarcomateuses....	1,71	2,30
	1,34	2,10
Sarcomes de souris	0,16	0,45
	0,11	0,31
	0,13	0,41
Carcinomes de souris	0,10	0,32
	0,07	0,28
	0,15	0,32
	0,17	0,44
	0,12	0,48

Les extraits glycéринés, nécessaires à l'obtention de ces résultats furent obtenus suivant la technique habituelle de Waldschmidt-Leitz.

Maschmann détermina l'augmentation de l'acidité sous l'influence de la protéolyse, dans un échantillon de titration de 2 cc. après une durée de désintégration de 24 heures à 30°. Notons que les résultats de Maschmann sont obtenus, non avec la technique de Van Slyke, mais avec la technique de Willstätter et Waldschmidt-Leitz, qui titrent en milieu alcoolique les COOH libérés par la protéolyse avec une solution alcaline (KOH 0,05 N).

II. — RESULTATS DE NOS TRAVAUX PERSONNELS

INFLUENCE DES INHALATIONS DE SH_2 SUR LA TENEUR EN CATHEPSINE DU FOIE ET DU MATÉRIEL TUMORAL

Nous nous sommes proposé :

1° D'étudier la teneur en cathepsine des foies de souris normales, des foies de souris cancéreuses (épithélioma de la mamelle greffé expérimentalement) et également les foies de deux lots de 8 souris ayant respiré de l' SH_2 pendant 20 jours et dont l'un fut simultanément greffé avec sa mise en atmosphère d' SH_2 (dans une cage de 1 m³, 81 et une concentration de 2,13 dixièmes de mgr. d' SH_2 par litre).

2° Nous avons recherché également, la teneur en cathepsine du matériel tumoral obtenu chez 20 souris blanches, par greffe sous-cutanée après vingt jours d'évolution. Dix de ces souris furent placées immédiatement après la greffe dans la cage à SH_2 . Toutes les souris furent sacrifiées le vingtième jour après la greffe.

PRÉPARATION DE NOS EXTRAITS : 8 foies furent broyés finement dans un mortier en porcelaine pendant dix minutes. Le broyat obtenu fut pesé et mélangé avec deux volumes de glycérine à 85 %. On agita cette

suspension pendant 4 heures, puis on la filtra dans la glacière à 2°.

UTILISATION DE L'EXTRAIT GLYCÉRINÉ : on préleva :

a) 2 cc. d'extrait glyciné, auquel on ajouta :

10 cc. de solution tampon à l'acétate PH = 4,0.

5 cc. de gélatine à 8 %.

H²O — QS pour 25 cc.

Le mélange a) fut placé à l'étuve pendant 24 heures à 37°.

DOSAGE : suivant la méthode de Van Slyke, c'est-à-dire que l'on titra les NH² libérés à partir du substrat protéique par le ferment protéolytique, en l'occurrence la « cathepsine ».

Le titrage porta sur 5 cc. du mélange (a). Les chiffres obtenus représentent le volume d'azote libéré à la température de 20° et sous une pression 750 mm. de Hg. Comme chiffres témoins on se servit des chiffres donnés par le mélange (a) avant toute protéolyse. Les résultats consignés ci-dessous représentent le nombre de centimètres cubes d'azote libérés par la protéolyse dans les conditions que nous avons précisées.

Teneur en cathepsine des foies de souris :

Normales	Cancéreuses	Cancéreuses ayant vécu 20 jours dans SH ₂	Normales ayant vécu 15 jours dans SH ₂
1,80	2,50	2,70	2,9
1,90	2,30	2,80	3,1
1,95	2,40		3
1,75			
1,90			
Moyenne : 1,80	2,40	2,75	3

Teneur en cathepsine des tumeurs de deux lots
de dix souris, dont l'un a vécu vingt jours dans SH_2 .

Tumeurs normales	Tumeurs des souris ayant vécu dans SH_2
2,10	2,30
2	2,10
2,90	
2,15	
Moyenne : 2,28	Moyenne : 2,20

CHAPITRE III

ACTION DE L'HYDROGENE SULFURE, EN INHALATION, SUR L'EVOLUTION DE L'EPITHELIOMA EXPERIMENTAL DE LA SOURIS BLANCHE

CONDITIONS EXPERIMENTALES

Nous nous sommes proposé d'étudier comparative-ment l'évolution des tumeurs greffées à deux lots de souris blanches en nous plaçant dans les conditions expérimentales suivantes.

I. — Animaux d'expérience

Un lot A (de 8 à 14 souris) placé en atmosphère d'hydrogène sulfuré.

Un lot B, de même nombre, servant de souris témoins.

Les souris du lot A furent placées dans une cage vitrée et mastiquée et dont les jointures des portes furent rendues étanches par l'application continue de leucoplaste. L'oxygène nécessaire à la vie des

souris fut assuré par l'ouverture quotidienne de la porte de la cage (4 à 5 minutes) lors du nettoyage et des manipulations nécessaires à la mise en marche de l'appareil à hydrogène sulfuré.

II. — Mode de préparation et d'administration de l'hydrogène sulfuré

On prépara l'acide sulfhydrique en décomposant le sulfure de fer artificiel FeS par un acide étendu (acide chlorhydrique). L'appareil dont on se servit, comprenait un flacon à une tubulure latérale dans lequel on mit chaque jour un gramme de sulfure de fer. Ensuite on versa par le tube à entonnoir de l'acide chlorhydrique dilué, qui tombait goutte à goutte sur FeS .

D'après la réaction $\text{FeS} + 2 \text{HCL} = \text{Fe Cl}^2 + \text{SH}^2$ l' SH_2 ainsi formé passait dans un flacon laveur, puis se répandait dans l'atmosphère de la cage. La cage mesurait 0 m. 53 de largeur, 1 m. 70 de longueur, 1 m. 92 de hauteur, plus un volume prismatique à section triangulaire dont la hauteur était de 0 m. 30, la base étant la même que celle de la cage.

$$\begin{array}{r} 1 \text{ m. } 70 \times 0 \text{ m. } 53 \times 1 \text{ m. } 92 = 1 \text{ m}^3 \text{ } 729 \\ 1 \text{ m. } 70 \times 0 \text{ m. } 53 \times 0 \text{ m. } 30 \\ \hline \qquad \qquad \qquad 3 \qquad \qquad \qquad = 0 \text{ m}^3 \text{ } 09 \end{array}$$

Volume total de la cage: $1 \text{ m}^3 \text{ } 72 + 0 \text{ m}^3 \text{ } 09 = 1 \text{ m}^3 \text{ } 81$.

III. — Technique de la greffe

Les souris furent greffées en série suivant la méthode de Borrel de Strasbourg, c'est-à-dire avec un trocart spécial, permettant des greffes sous-cutanées sensiblement égales.

En moyenne les souris pesaient 20 grammes. Le matériel tumoral provenait de la souche Casparri de Francfort, régulièrement entretenue au laboratoire de médecine expérimentale depuis dix années. On opéra avec une très grande rigueur d'asepsie et l'on essaya, à chaque expérience, de greffer les deux lots de souris en partant d'une seule tumeur non nécrotique afin d'avoir le même potentiel évolutif. Nos premiers essais furent rendus difficiles par la grande toxicité de l'hydrogène sulfuré. Après tâtonnement nous nous arrêtâmes à la dose de un gramme de FeS par 24 heures, c'est-à-dire une concentration de : 2,13 dixièmes de mgr. par litre ou 0,140 cm³ de SH₂ par litre. A une dose supérieure (1 gr. 50 de FeS par jour) les souris mouraient en grand nombre dès le 6^e jour; nous sommes donc revenus au chiffre de 1 gr.

Chaque expérience comporte des variantes, dans le but d'apprécier l'action de l'SH₂, cette action s'étant exercée tantôt au moment de la greffe, tantôt avant la greffe (avec ou sans intervalle libre entre l'intoxication et la greffe).

Nous avons surtout essayé d'intoxiquer les souris le plus longtemps possible avant de les greffer et

d'étudier leur comportement pendant la pousse de l'épithélioma, afin de se rapprocher au maximum des conditions pouvant se réaliser spontanément en clinique humaine.

Chaque tumeur fut pesée séparément, avant de calculer le poids total des tumeurs de chaque lot (sauf dans les expériences B et D, le processus néoplasique n'ayant pas donné des tumeurs individuellement pondérables).

Pour l'exécution de ces expériences, nous avons eu à surmonter des difficultés techniques qui pèsent sur la rigueur des résultats, ainsi que cela se rencontre souvent dans les expériences biologiques. Parmi ces difficultés, il faut signaler la variabilité du potentiel évolutif du greffon qui peut tenir soit à la tumeur souche, soit à des conditions secondaires (température, saisons, nourriture hivernale, avitaminose relative): mais on a pu pallier suffisamment à ces diverses causes d'erreur: 1° en répétant les expériences, qui ont toujours évolué dans le même sens; 2° en prenant des témoins greffés de façon identique et soumis au même régime alimentaire.

Nous diviserons nos expériences en 4 groupes.

GRUPE I : Souris greffées immédiatement après séjour préalable dans SH_2 et remises en milieu d'hydrogène sulfuré pendant la pousse de l'épithélioma (2 séjours).

GRUPE II : Greffe simultanée avec la mise dans SH_2 mais sans séjour préalable dans la cage à SH_2 (1 séjour).

GRUPE III : Souris ayant séjourné dans SH_2 , puis retirées pendant 40 jours et replacées 30 jours dans l' SH_2 . Ces souris furent alors greffées et remises encore dans SH_2 (soit 3 séjours dans SH_2).

GRUPE IV : Expérience négative sur des souris ayant séjourné dans l' SH_2 , mais greffées un mois après cessation de l'intoxication et mises à l'air libre pendant ce temps et pendant la pousse de l'épithélioma.

GRUPE I.

Expérience A.

12 souris furent placées pendant 17 jours dans la cage à hydrogène sulfuré, puis greffées le 17^e jour ainsi que 10 souris témoins. Le premier lot fut replacé pendant 18 jours dans la cage. Toutes les souris furent sacrifiées le 18^e jour de la greffe.

Lot A : les 12 souris sont donc restées

17 + 18 = 35 jours dans la cage à

SH₂.

Souris 1 morte le 4^e jour de l'exp.

— 2 négative

— 3 négative

— 4 négative

— 5 Poids de la tumeur 0 gr. 30

— 6 — 0 gr. 35

— 7 — 0 gr. 05

— 8 — 1 gr. 15

— 9 — 1 gr. 65

— 10 — 1 gr. 80

— 11 — 2 gr. 35

— 12 — 2 gr. 55

Poids total.. 10 gr. 20

a) Nombre de souris survivantes : 11.

b) Nombre de souris positives : 8.

Lot B : 10 souris témoins.

Souris 1 Poids de la tumeur 0 gr. 75

— 2 — 1 gr. 60

— 3 — 1 gr. 80

— 4 — 2 gr. 35

— 5 — 2 gr. 45

— 6 — 3 gr. 55

— 7 — 3 gr. 60

— 8 — 3 gr. 70

— 9 — 4 gr. 35

— 10 morte le 3^e jour de la greffe.

Poids total.. 24 gr. 15

a) Nombre de souris survivantes : 9.

b) Nombre de souris positives : 9.

Nous donnerons donc deux sortes de résultats en ce qui concerne le poids tumoral moyen par souris.

a) 10 gr. 20 : 11 = 0 gr. 92.

b) 10 gr. 26 : 8 = 1 gr. 27.

c) Poids moyen : 24 gr. 15 : 9 = 2 gr. 68.

b) Poids moyen : 24 gr. 15 : 9 = 2 gr. 68.

Expérience B (42 jours dans SH₂).

8 souris furent placées dans la cage pendant 25 jours, puis greffées le 25^e jour ainsi que 8 souris

• témoins. On sacrifia les 2 lots de souris 17 jours après le début de la greffe.

Lot A : les 8 souris sont donc restées

25 + 17 = 42 jours dans SH₂.

1 souris est morte négative le 8^e jour de la greffe.

3 souris furent légèrement positives.

4 souris présentèrent des tumeurs moyennes.

Poids total : 3 gr. 65.

a) Souris survivantes : 7.

b) Souris positives : 7.

Poids moyen :

a) 3,65 : 7 = 0 gr. 52.

b) 3,65 : 7 = 0 gr. 52.

Lot B : 8 souris témoins.

2 souris furent négatives.

6 souris positives.

Le poids total des tumeurs est de 6 gr. 45.

a) Souris survivantes : 8.

b) Souris positives : 6.

Poids moyen :

a) 6 gr. 45 : 8 = 0 gr. 805.

b) 6 gr. 45 : 6 = 1 gr. 075.

Expérience C (greffe après 60 jours dans SH₂).

11 souris furent placées pendant 10 jours dans la cage à hydrogène sulfuré, à la dose journalière de 1 gr. 50 de FES (en deux fois : 1 gr. le matin, 0 gr. 50 l'après-midi). 3 souris sont mortes intoxiquées. Aussi la dose journalière est-elle ramenée à 1 gr. de FeS pendant 30 jours.

Donc après un séjour de 40 jours dans la cage les 8 souris restantes sont greffées ainsi que 8 souris témoins.

Les deux lots de souris furent sacrifiés 20 jours après la greffe.

Lot A : séjour total dans SH₂ :

40 + 20 = 60 jours.

Souris 1 morte négative 5 jours après la greffe.

— 2 Poids de la tumeur.	1 gr. 31
— 3 — — —	1 gr. 04
— 4 — — —	0 gr. 88
— 5 — — —	0 gr. 49
— 6 — — —	0 gr. 33
— 7 — — —	0 gr. 28
— 8 — — —	négative

Poids total.. 4 gr. 33

a) Souris survivantes : 7.

b) Souris positives : 6.

Poids tumoral moyen :

a) 4 gr. 33 : 7 = 0 gr. 63.

b) 4 gr. 33 : 6 = 0 gr. 72.

Lot B : souris témoins.

Souris 1 morte négative dans les premiers jours de la greffe.

— 2 Poids de la tumeur.	2 gr. 95
— 3 — — —	1 gr. 60
— 4 — — —	1 gr. 25
— 5 — — —	2 gr. 87
— 6 — — —	1 gr. 18
— 7 — — —	0 gr. 55
— 8 — — —	0 gr. 45

Poids total.. 10 gr. 85

a) Souris survivantes : 7.

b) Souris positives : 7.

Poids moyen: 10 gr. 85 : 7 = 1 gr. 55.

Expérience D (greffe après 81 jours dans SH₂).

8 souris furent placées dans la cage pendant 62 jours (toujours à la dose quotidienne de 1 gr. de FeS). Ces souris sont alors greffées, ainsi que 8 autres souris témoins. Les deux lots de souris furent sacrifiés 19 jours après la greffe. Le lot A a donc vécu $62+19=81$ jours en atmosphère hydrogène-sulfurée.

Lot A :

Poids total des tumeurs des souris traitées pendant 81 jours = 4 gr. 35.

Souris survivantes : 8.

Souris positives : 8.

Poids moyen : $4 \text{ gr. } 35 : 8 = 0 \text{ gr. } 54.$

Les tumeurs de ces souris sont molles, hémorragiques, certaines presque fluides, couleur lie de vin, contrairement aux tumeurs des souris témoins qui sont fermes et blanchâtres au niveau des noyaux cancéreux inclus dans un stroma conjonctif normal.

Lot B : souris témoins.

Au 19^e jour de la greffe les tumeurs des souris témoins sont nettement plus volumineuses que celles des souris traitées. Une souris témoin est morte positive le 7^e jour de la greffe.

Poids total des tumeurs : 6 gr. 85.

a) Souris survivantes : 7.

b) Souris positives : 7.

Poids moyen par tumeur : $6 \text{ gr. } 85 : 7 = 0 \text{ gr. } 98.$

GROUPE II : greffe simultanée avec séjour dans SH₂.

2 lots A et B de 10 souris furent greffés suivant la technique habituelle. Le lot A, greffé, fut placé directement dans la cage à H₂S, sans séjour préalable dans l'atmosphère hydrogène-sulfurée. Le lot B servit de souris témoins. Toutes les souris furent sacrifiées le 22^e jour après le début de la greffe.

Lot A : 22 jours dans SH₂.

Souris 1	négative
— 2	négative
— 3	négative
— 4 Poids de la tumeur.	0 gr. 10
— 5 — — —	0 gr. 10
— 6 — — —	1 gr. 20
— 7 — — —	4 gr. 30
— 8 — — —	6 gr. 70
Poids total..	12 gr. 40

Deux souris sont mortes négatives dans

les 6 premiers jours de l'expérience.

a) Nombre de souris survivantes : 8.

b) Nombre de souris positives : 5.

Poids moyen de l'ensemble des souris:

a) 12 gr. 40 : 8 = 1 gr. 55.

b) 12 gr. 40 : 5 = 2 gr. 48.

Lot B : 10 souris témoins.

Souris	1	Poids	de la tumeur	0 gr. 35
—	2	—	—	0 gr. 70
—	3	—	—	0 gr. 90
—	4	—	—	0 gr. 90
—	5	—	—	1 gr.
—	6	—	—	2 gr. 80
—	7	—	—	3 gr. 65
—	8	—	—	4 gr. 55
—	9	—	—	4 gr. 70
—	10	—	—	5 gr. 45

Poids total.. 25 gr.

a) Nombre de souris survivantes : 10.

b) Nombre de souris positives : 10.

Poids moyen de l'ensemble des souris:

a) 25 gr. : 10 = 2 gr. 50.

b) 25 gr. : 10 = 2 gr. 50.

GROUPES III : (séjour dans SH₂ retrait et remise dans SH₂).

20 souris furent placées une première fois dans la cage pendant 26 jours (toujours à la dose quotidienne de 1 gr. de FeS) puis retirées de l'atmosphère méphitique pendant 40 jours. Elles sont remises dans la cage après cette période de désintoxication pendant 30 jours encore.

Des 20 souris initiales 14 seulement survivent. On greffe ces 14 souris (qui sont remises dans la cage) ainsi que 14 autres qui serviront de témoins. Les deux lots de souris sont sacrifiés 23 jours après le début de la greffe.

greffées dans chaque lot). De plus, les tumeurs étaient sensiblement égales entre elles, en poids et en volume extérieurisé.

RÉSUMÉ DE NOS EXPÉRIENCES

chiffre total de 140 souris, dont moitié traitées, moitié témoins

		POIDS TUMORAL MOYEN	
		souris traitées	souris témoins
GROUPE I (séjour préalable dans SH ₂).			
Séjour total dans SH ₂	35 jours	0 gr. 92	2 gr. 68
		1 gr. 27	2 gr. 68
	42 jours	0 gr. 52	0 gr. 806
		0 gr. 52	1 gr. 075
	60 jours	0 gr. 63	1 gr. 55
		0 gr. 72	1 gr. 55
	81 jours	0 gr. 54	0 gr. 98
		0 gr. 54	0 gr. 98
GROUPE II : greffe simultanée avec séjour dans SH ₂ .			
Séjour total dans SH ₂	22 jours	1 gr. 55	2 gr. 50
		2 gr. 48	2 gr. 50
GROUPE III : greffe après séjour préalable, retrait et remise dans SH ₂ .			
Séjour total dans SH ₂	79 jours	0 gr. 79	1 gr. 08
		0 gr. 90	1 gr. 17
GROUPE IV : greffe après cessation de l'intoxication pendant un mois.			
Séjour total dans SH ₂	30 jours	0 gr. 85	0 gr. 85

CONCLUSIONS

Dans les conditions générales de nos expériences nous avons vu que :

I. — L' SH_2 , en plus de ses actions toxiques générales, souvent mortelles pour ceux qui sont professionnellement exposés à son influence (égoutiers, vidangeurs, etc.), joue un rôle important dans l'inhibition ou l'activation de certains ferments et dans l'arrêt momentané de certains processus biologiques (expériences sur les œufs d'étoile de mer).

II. — Au point de vue de son action sur l'épithélioma expérimental de la souris blanche, l' SH_2 a produit dans les conditions générales de nos expériences et à nos doses :

- a) pour le groupe I (séjour préalable dans SH_2 avant la greffe) et le groupe II (greffe simultanée avec séjour dans SH_2), une diminution générale du poids des tumeurs traitées par rapport au poids des tumeurs des animaux témoins.
- b) pour le groupe III (greffe après séjour préalable, retrait et remise dans SH_2) : une diminution légère du poids total des tumeurs des souris traitées, mais il y a une grosse inégalité de poids de ces tumeurs prises iso-

lément, de sorte que les plus petites et également les plus grosses tumeurs appartiennent aux animaux soumis à l'action de l' SH_2 .

Par contre les tumeurs de poids moyen sont la règle chez les souris témoins. Tout se passe donc comme si l'intoxication avait exagéré le poids des extrêmes aux dépens des poids moyens.

C'est cette constatation qui pourrait peut-être expliquer l'apparition de processus néoplastiques chez les sujets exposés à l'inhalation répétée d' SH_2 dans les laboratoires de chimie.

III. — Il paraît logique de rattacher l'action expérimentale constatée, d'une part à l'effet général dépressif sur l'organisme de la souris porte-greffe, et, d'autre part, à une modification des ferments intracellulaires.

IV. — La teneur en cathepsines du foie et des tumeurs, notablement augmentée sous l'influence d'inhalations prolongées d' SH_2 a été interprétée par certains auteurs (Maschmann et E. Helmert), ainsi que nous l'avons constaté, comme constituant un des nombreux moyens de défense de l'organisme.

Vu :	Vu :
LE DOYEN :	LE PRÉSIDENT DE LA THÈSE :
JEAN LÉPINE.	ARLOING.

Vu et permis d'imprimer :

Lyon, le 13 Juin 1939.

LE RECTEUR, PRÉSIDENT DU CONSEIL DE L'UNIVERSITÉ.
A. LIRONDELLE.

BIBLIOGRAPHIE

BIBLIOGRAPHIE DE L'HYDROGENE SULFURE

- BALTHAZARD (V.). — Intoxication par l'hydrogène sulfuré. Nouveau traité de médecine. Intoxication IV, p. 192.
- BEERMANN (H.). — Some physiological actions of hydrogen sulphide. *Journal of experimental Zoologie*, XLI, 1924, 33-43.
- *Chem. Zentral. Bl.*, 1925, II, p. 2003.
- BROUARDEL et MOSNY. — Traité d'hygiène. Hygiène industrielle, p. 506.
- BROUARDEL et LOYE. — Recherches sur l'empoisonnement par SH_2 . *C. R. Académie des Sciences*, 1885.
- BUBANI (L.). — L'eliminazione dell' idrogeno solforato attra verso l'albero respiratorio. *Bull. d. Sc. Med. Di. Bologna*, 1925, 10, 368.
- CALN. — Intoxication aiguë non mortelle par SH_2 pur chez l'homme. *Gazette Hebdomadaire*, 1883, p. 864.
- CHAIX (P.). — Action des dérivés sulfurés sur la fermentation du glucose par les bactéries propioniques. *C. R. Acad. des Sc.*, 201, 1935, 857.
- CLERGET, KOFMAN et MILHAUD. — *Compte rendu Soc. Bio.*, 91, 669, 1924.
- FABRE (R.). — Leçons de toxicologie; toxicologie des gaz II. Première partie, p. 42, 1935.
- FISCHER (R.). — *Biochem. Zeitsch.*, 125, 12, 1921.
- HEFFTER (A.). — Handbuch der Experimentellen Pharmakologie. Band III Erste Hälfte Schwefelwasserstoff und Schwefelalkali von Julius Pohl, p. 433.
- HESS (E.). — *Arch. für Exp. Patho. und Pharmakologie*, 117, S. 266, 1926.
- LIKHTNER (V. A.). — Eye injuries due to hydrogen sulfide in petroleum refining Plant (Vestnik. oftal), 11, 256, 1937.
- NEGELEIN (E.). — *Bioch. Zeitsch.*, 165, 203, 1925.

- NEUBERG (C.). — *Bioch. Zeitschrift*, 165, 237, 1925.
- OGIER (J.) et KOHN-ABREST. — *Traité de chimie Toxicologique*, p. 237, 1924.
- PASCAL (P.). — *Traité de chimie minérale*, 1932, p. 96.
- REIMANN (S. P.). — Aberrant growths in regenerating claws of hermit crab under influence of sulphhydryl; their relation to neoplasia. *Arch. of Patho.*, 15, 675-697, Mai 1933.
- REIMANN (S. P.) et HALL (E. M.). — Protective action of sulphhydryl against carcinogenesis induced with 1, 2, 5, 6 dibenzanthracene. *Arch. of Patho.*, 22-55, juillet 1936.
- STOCKER (F.). — *Praktische Bemerkungen zur pathologie und therapie der schwefelwasserstoff Erkrankung der Augen. Med. Klini.*, 27, 167, Jvr. 31.
- YUNT (W. P.). — Hydrogen sulphide in industry: occurrence effects and treatment. *Am. J. Pub. Health*, 20, 598-608, June 1930.

BIBLIOGRAPHIE DES CATHEPSINES

- I BADINAND (A.). — Sur les modifications du rôle de l'acide ascorbique comme activateur de la cathepsine hépatique, sous l'influence des métaux ajoutés soit sous forme ionisable, soit faisant partie de complexes dérivés de la vitamine C. (*Compte rendu des séances de l'Acad. des Sciences*, t. 202, p. 1714; 18 mai 1936).
- Action d'éléments métalliques sur l'activation de la cathepsine hépatique par la vitamine C. (*Compte rendu de la Soc. de Bio.*, t. CXXII, 1936, p. 1097).
- Sur les cathepsines hépatiques et tumorales de certains animaux cancéreux (*Compte rendu Soc. de Biol.*, 19 juin 1939).
- II BAMANN (E.) et REUDLER (E.). — *Z. physiol. Chem.*, 223, 18, 1934.
- BAMANN et LAERVERENZ (P.). — *Z. physio. Chem.*, 238, 133, 1936.

- III BERSIN (Th.). — Thiolverbindung und Enzyme. Ergebnisse der Enzymforschung. Band IV, p. 68, 1935.
— Kurzeslehrbuch der Enzymologie. Ergeb. der Enzymforschung. Band VI, p. 189, 1937.
- BERSIN et LOGEMANN. — *Zeit. phys. Chem.*, 220, 171, 1933.
- IV BERTRAND (G.). — *Bull. Soc. Chimie France*, 17, 619, 1897.
— *Bull. Soc. chimie Bio.*, 17, p. 1137, 1935; 18, p. 213, 1936.
- V CHAIX (P.). — Action des dérivés sulfurés sur la fermentation du glucose par les bactéries propioniques. *Compte rendu Académie des Sciences*, 201, 857, 1935.
- VI FLEURY (P.). — De la diastase de Payen aux diastases actuelles. *Bull. Soc. Chim. Bio.* Numéro spécial: IV^e Congrès chim. bio., 1934.
- VII GRASSMANN (W.). — Protéolytische Enzyme des Tier- und Pflanzenreiches : Ergeb. der Enzymforschung. Band I, seite 129, 1932.
GRASSMANN und F. SCNEIDER. — *Argeb. der Enzfshg.*, p. 79. Band V, 1936.
GRASSMANN et DICKERHOFF. — *Z. P. Ch.*, 179, p. 41, 1928.
- VIII KARRER, SALOMON, SCHOPP et MARF. — *Bioch. Zeit.*, 258, 4, 1933.
- IX KREBS. — *Bio. Zeit.*, 220, 1930, 281; 238, 1931, 174.
- X MASCHMANN et HELMERT (E.). — Zur Kenntnis der Katheptischen Proteinase. *Hoppe-Seyler's Zeitschrift für Physiolog. Chemie*, seite 141, 216, 1933.
— Ueber Kathepsin und Peptidasen in carcinomatösen und sarkomatösen Tieren, seite 161, 216, 1933.
— Ueber Hemmung des Kathepsins und Aktivierung des Papains durch α Sulfhydrylcarbonsäuren, seite 207, 222, 1933.
- XI MENDEL et BLOOD. — *Journal of Biologie Chemistry*, 8, 177, 1910.
- XII MICHAELIS (L.) et MEUTEN (Mlle.). — *Biochem. Zeitschr.*, 49, 333, 1913.
- XIII PURR (A.). — Etude sur l'inactivation réversible de la papaïne et de la cathepsine. *The Biochemical Journal*, 29, 1935, 1.

- Les cathepsines chez le rat et le cancer greffé.
The Biochemical Journal, t. XXVIII, p. 1903, 1934.
- PURR (A.) and RUSSEL. — *Hoppe-Seyler's Zeitschrift für Physio. Chemie*, 228, 1934, 198.
- XIV SANNIÉ (C.). — Le cancer chimique, le métabolisme de l'organisme cancéreux. Expos. annuel de Bioch. Méd., 1939.
- XV TAUBER (H.). — Activators and inhibitors of Enzymes, p. 42, *Ergebnisse der Enzymforschung*, Band IV, 1935.
- XVI WALDSCHMIDT-LEIZ (E.). — Recent advances in enzym chemistry. *Revue J. Soc. Chim. Ind.*, 55, 620, 1936.
- WALDSCHMIDT-LEIZ, SCHARIKOVA et SCAFFNER. — *Zeit. Phys. Chem.*, 214, 75, 1933.
- WALDSCHMIDT-LEIZ, BECK et KAHR. — *Naturwissenschaft* i. 17, p. 85, 1929.
- XVII WILLSTATTER et GRASMANN. — *Zeit. für physio. chem.* t. 138, p. 184, 1924.
- WILLSTATTER UND MITARBEITERN. — *Zeit. für physio. chem.*, t. 151, p. 286, 1926.
- WILLSTATTER, R. RUHN et BAMANN (E.). — *Berl. deutsch. chem. gesell.* t. 61, p. 886, 1928.
- WILLSTATTER et POLLINGER (A.). — *Zeit. für physio. chem.*, t. 130, p. 281, 1923.

TABLE DES MATIERES

Introduction	11
<i>Chapitre premier.</i> — L'hydrogène sulfuré	15
Historique	15
Propriétés physio-pathologiques	15
Symptomatologie du sulfhydrisme professionnel	21
Forme aiguë	21
Forme lente ou chronique	23
<i>Chapitre II.</i> — Introduction	25
Historique des papaïnases	27
Les cathepsines	28
Activation et inactivation de la cathepsine et de papaïne	29
I. — De la teneur en cathepsine des organes de la musculature et des tumeurs d'animaux normaux, cancéreux et cancéro-résistants	37
II. — Résultats de nos travaux personnels	41
<i>Chapitre III.</i> — Action de l'hydrogène sulfuré, en inhalations, sur l'évolution de l'épithélioma expérimental de la souris blanche	45
Conditions expérimentales	45
I. — Animaux d'expérience	45
II. — Mode de préparation et d'administration de l'hydrogène sulfuré	46
III. — Technique de la greffe	47
Groupe I	49
Groupe II	52
Groupe III	53
Groupe IV	54
Conclusions	57
Bibliographie	59



BOSC FRÈRES, M. & L. RIOU

°° °° °° IMPRIMEURS-ÉDITEURS °° °° °°

°° 42, QUAI GAILLETON, 42 °°

°° °° °° °° LYON °° °° °° °°



